

# 2

## Origines et mécanismes du rejet aigu et hyperaigu

Le rejet aigu d'allogreffe reste un problème majeur en transplantation d'organes solides car il peut conduire à une perte de fonction de la greffe, aiguë ou chronique. Deux mécanismes immunologiques généraux sont mis en jeu au cours du rejet aigu d'allogreffe : la réponse innée non spécifique, qui prédomine dans la phase précoce de la réponse immune, et la réponse alloréactive (ou réponse adaptative), spécifique du donneur et résultant de la reconnaissance des alloantigènes par les lymphocytes T du receveur.

### Classification des rejets aigus

Les rejets aigus d'allogreffes peuvent se classer en rejet hyperaigu et rejet aigu.

#### Rejet hyperaigu

Le rejet hyperaigu apparaît dans les minutes suivant l'introduction du greffon dans l'organisme et concerne uniquement les greffes vascularisées. Ce rejet, très rapide, est caractérisé par une thrombose des vaisseaux qui provoque la nécrose du greffon. Le rejet hyperaigu est dû à la présence chez le receveur d'anticorps anti-donneur préformés (Cai et Terasaki, 2005a et b). Il n'y a pas dans ce cas d'infiltration cellulaire au niveau du greffon. Les anticorps entraînent l'activation du complément et une stimulation de la cellule endothéliale qui va sécréter, entre autres, le facteur pro-coagulant Von Willebrand provoquant l'adhésion et l'agrégation des plaquettes. Cette série de réactions va alors engendrer une thrombose intravasculaire aboutissant à la formation des lésions et à la perte du greffon (Cai et Terasaki, 2005a et b). Ces anticorps préformés sont naturels (comme les anticorps anti-A et B des groupes sanguins) ou acquis lors de situations immunogènes antérieures telles que transfusions, grossesses ou greffe. Les anticorps acquis reconnaissent notamment des déterminants du CMH (complexe majeur

d'histocompatibilité), anticorps anti-HLA (*Human Leukocyte Antigen*) chez l'homme.

De nos jours, ce type de rejet est évité dans la majorité des cas par l'analyse des compatibilités HLA entre le donneur et le receveur.

## Rejet aigu

Le rejet aigu est dû à la réaction du système immunitaire contre le greffon et peut survenir de une semaine à plusieurs mois après la transplantation. Le rejet aigu cellulaire nécessite une immunisation et met donc plusieurs jours à survenir. Il est diagnostiqué par une biopsie de l'organe greffé et les lésions observées font l'objet de classifications internationales (classification de Banff pour le rein) (Marks et Finke, 2006). Actuellement, grâce aux traitements immunosuppresseurs, les épisodes de rejet aigu surviennent dans moins de 15 % des transplantations (Port et coll., 2004) chez les patients non immunisés.

Le rejet aigu peut être le résultat de deux mécanismes immunologiques qui peuvent agir seuls ou ensemble (Marks et Finke, 2006) :

- un processus dépendant des lymphocytes T, qui correspond au rejet cellulaire aigu ;
- un processus dépendant des lymphocytes B générant le rejet humoral aigu.

Le rejet aigu cellulaire est dû à la reconnaissance par les lymphocytes T du receveur des antigènes allogéniques du donneur dans un contexte CMH (du donneur et du receveur). Après transplantation, les cellules dendritiques du donneur migrent vers les organes lymphoïdes secondaires du receveur où elles vont activer les cellules T du receveur par présentation directe et indirecte. Les lymphocytes T ainsi activés prolifèrent puis migrent vers le greffon où ils sont attirés par les molécules d'adhésion exprimées par l'endothélium devenu inflammatoire.

## Réponse adaptative et rejet d'allogreffe

Les lymphocytes T jouent un rôle central dans l'initiation des mécanismes du rejet d'allogreffe. La réponse alloréactive contre le greffon peut être divisée en trois phases successives : la reconnaissance des alloantigènes par les lymphocytes T naïfs de l'hôte, l'activation et l'expansion des cellules T alloréactives et la phase effectrice de rejet. Lors de la réponse adaptative, différents antigènes du donneur peuvent être reconnus par le système immunitaire de l'hôte :

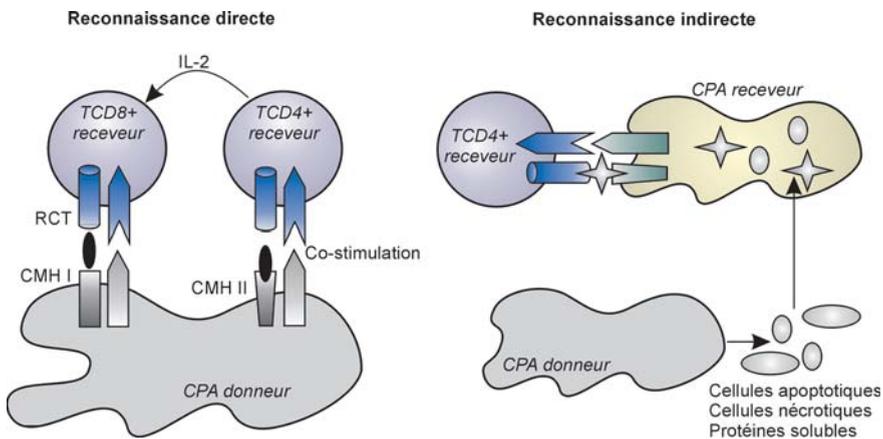
- les alloantigènes majeurs représentés par les molécules de classe I et II du CMH, HLA chez l'homme ;

- les alloantigènes mineurs : allopeptides présentés par les molécules de classe I ou II ;
- les autres antigènes reconnus par leur réaction croisée avec les antigènes du greffon, comme des autoantigènes ou des antigènes viraux.

La reconnaissance des alloantigènes par les cellules T peut se faire par deux voies différentes non exclusives (figure 2.1) :

- la reconnaissance directe (unique à la transplantation) : les cellules T reconnaissent le complexe CMH/peptide du donneur sur la surface des cellules présentatrices de l'antigène (CPA) du donneur. Le peptide associé au CMH de classe I est préférentiellement reconnu par les cellules T CD8<sup>+</sup> et le peptide associé au CMH de classe II par les cellules T CD4<sup>+</sup> ;
- la reconnaissance indirecte, les antigènes du donneur sont internalisés et transformés par les CPA du receveur, puis présentés au niveau des molécules du CMH de classe II et classe I (présentation croisée) du receveur et reconnus par les cellules T.

Une troisième voie a été récemment proposée par le groupe de R. Lechler, la voie semi-directe. Par un mécanisme de « passage » entre les membranes des CPA du donneur et du receveur, le CMH du donneur est reconnu à la surface des CPA du receveur (Herrera et coll., 2004).



**Figure 2.1 : Voies de reconnaissance des alloantigènes par les lymphocytes T (Golshayan et coll., 2007)**

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité ; CPA : cellule présentatrice de l'antigène ; RCT : récepteur de cellule T ; T CD8<sup>+</sup> et T CD4<sup>+</sup> : lymphocytes T CD8<sup>+</sup> et T CD4<sup>+</sup>

## Réponse innée et rejet d'allogreffe

Bien que la réponse T adaptative joue un rôle central dans les mécanismes du rejet d'allogreffe, il a été récemment reconnu que les médiateurs pro-inflammatoires précoces (induits avant le début de la réponse T) ont également un rôle important dans ce processus. L'inflammation est due à la réponse immune innée déclenchée par le stress tissulaire, en absence d'infection et indépendamment de la réponse adaptative (Christopher et coll., 2002 ; He et coll., 2002 et 2003 ; Land, 2005). En effet, il a été montré que, un jour après une greffe cardiaque, l'expression de gènes codant pour des molécules liées à l'inflammation (cytokines pro-inflammatoires, chimiokines, composants de l'infiltrat cellulaire) était similaire chez les souris normales et chez les souris comportant une mutation dans le gène *Rag* (*Recombinase activating gene*) et déficientes en cellules T (He et coll., 2002). Ces auteurs ont également montré que la réponse innée est indépendante de l'antigène, qu'elle se développe précocement après transplantation et conditionne le développement de la réponse adaptative (He et coll., 2002).

Les cellules impliquées dans la réponse innée expriment des récepteurs PRRs (*Pattern Recognition Receptors*) dont la spécificité est génétiquement déterminée et qui sont classés en plusieurs groupes selon leur structure :

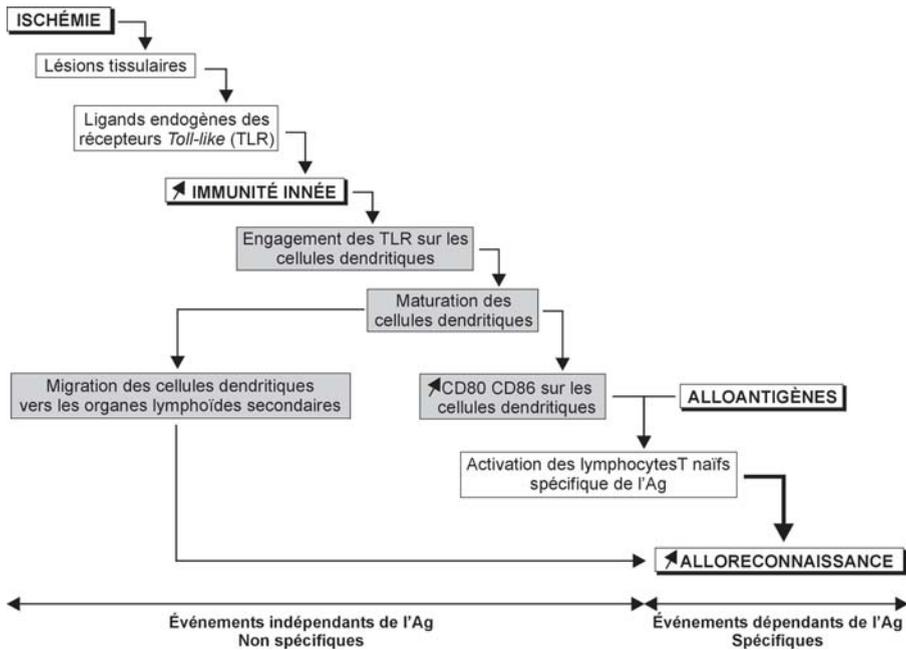
- les TLRs (*Toll-Like Receptors*) ;
- les NLRs (*NOD-Like Receptors*) ;
- les RLHs (*RIG-Like Helicases*) ;
- le récepteur RAGE (*Advanced glycosylation end product receptor*) ;
- les autres récepteurs comme les récepteurs éboueurs (*Scavenger receptors*), la lectine spécifique du mannose (*Mannose binding lectin*), le récepteur du complément, Dectin-1.

Les PRRs permettent de reconnaître des molécules issues du « danger » comme :

- les ligands exogènes PAMPs (*Pathogen-Associated Molecular Patterns*) (Janeway et Medzhitov, 2002) ;
- les ligands endogènes DAMPs (*Damage-Associated Molecular Patterns*) (Mollen et coll., 2006).

Immédiatement après transplantation, des lésions du greffon causées par les procédures de prélèvement et d'ischémie/reperfusion, et indépendantes de l'alloantigène, induisent une immunogénicité de l'organe par les signaux de danger qui vont activer les cellules dendritiques (CD), CPA du donneur (LaRosa et coll., 2007) (figure 2.2). La voie directe de l'allorecognition est mise en jeu et les CD du greffon (leucocytes passagers) vont se différencier en réponse aux stimuli donnés par les PAMPs et les DAMPs, puis migrer vers les régions T des organes lymphoïdes du receveur. De cette façon, les cellules T naïves alloréactives vont être stimulées, devenir des effecteurs et migrer dans le greffon. D'autres cellules de l'immunité innée

comme les neutrophiles, les macrophages et les cellules NK (*Natural Killer*) vont rapidement infiltrer la greffe en réponse aux stimuli inflammatoires. Au niveau du greffon, ces cellules vont contribuer à la formation des lésions soit directement soit à travers la production de molécules pro-inflammatoires. Ces cellules vont également aider à amplifier et maintenir la réponse immunitaire T adaptative.



**Figure 2.2 : Relation entre réponse immunitaire innée et réponse immunitaire adaptative en transplantation d'organes**

Ag : antigène

### Lésions et danger endogène en transplantation

Matzinger (1994) a proposé que le système immunitaire détecte et répond aux stimuli donnés par des molécules libérées pendant la lésion cellulaire provoquée par des micro-organismes ou d'autres stress. C'est le modèle de « danger ».

Il a été montré que le traitement de la greffe rénale avec la superoxyde dismutase recombinante humaine (qui réduit la production d'anions superoxyde) diminue l'incidence de rejet aigu et chronique d'allogreffe (Land et coll., 1994). D'autres agents antioxydants, actuellement utilisés en clinique comme l'edaravone (dans l'infarctus aigu du cerveau) et le mimétique de

SOD (*Superoxyde dismutase*) (dans l'extraction dentaire) ont été testés dans des modèles d'ischémie/reperfusion avec des résultats positifs sur la survie de l'allogreffe (Masini et coll., 2002 ; Tahara et coll., 2005). Récemment, il a été montré que chez le donneur de greffe, l'induction de HO-1 (hème oxygénase-1), un puissant antioxydant, avait un effet bénéfique sur la survie du greffon (Kotsch et coll., 2006).

Matzinger avait émis l'hypothèse qu'en l'absence de signaux de danger (PAMPs et DAMPs) il n'y aurait pas de rejet (tolérance par ignorance). Cette hypothèse reste difficile à prouver *in vivo* mais plusieurs groupes ont tenté de la tester. Des greffes réalisées sur des animaux déficients en cellules T ont été tolérées pendant une longue période de temps. À 50 jours, si le compartiment T est reconstruit, par transfert adoptif ou par greffe de moelle osseuse, les greffes d'organe sont rejetées. À 50 jours, histologiquement les greffons ont un aspect normal mais des analyses par Q-RT-PCR ont montré une expression faible de différentes molécules inflammatoires. Ces résultats montrent que des greffes tolérées chez des receveurs déficients en cellules T peuvent être rejetées par transfert adoptif de cellules T et suggèrent la persistance de signaux de danger même s'ils n'ont pas pu être clairement identifiés (Bingaman et coll., 2000 ; Anderson et Matzinger, 2001).

Chalasanani et coll. (2004) ont analysé le rôle de la réponse innée dans un modèle où les receveurs de greffe cardiaque sont splénectomisés et alymphoblastiques (les animaux ont des cellules T mais pas d'organes lymphoïdes secondaires, ils n'ont pas de stimulation primaire de cellules T naïves). Dans ce modèle, les allogreffes ne sont pas rejetées même après transfert adoptif de cellules T alloréactives activées. Cependant à 100 jours, des signes de rejet chronique se sont développés dans les allogreffes. En utilisant le même modèle, et en attendant 50 jours, les greffes ont été re-transplantées dans un deuxième receveur (identique au premier) et des cellules T allospécifiques ont été injectées ; les greffons ont été rejetés avec une cinétique plus longue. Ces résultats suggèrent que l'inflammation et le stress jouent un rôle dans les mécanismes de rejet aigu de greffe (Chalasanani et coll., 2004).

### **Récepteurs de l'immunité innée (PRRs) et rejet d'allogreffe**

Des receveurs et des donneurs déficients en certains récepteurs de la réponse innée comme les TLRs et aussi pour la molécule MyD88 (un adaptateur de la signalisation de tous les TLRs, sauf TLR3) ont été utilisés pour analyser le rôle de la signalisation TLR dans le rejet de greffe.

Il a été montré que des greffes de peau de souris femelles déficientes en MyD88 greffées sur des receveurs mâles aussi déficients en MyD88 étaient tolérées. En revanche, des greffes déficientes en TLR2, TLR4 et caspase 1 sont rejetées par les receveurs déficients pour la même molécule. Ces résultats

suggèrent que dans ce modèle le rejet est dépendant de MyD88 mais indépendant de TLR2 et TLR4, d'IL-1 et IL-18. La présence de MyD88 chez le donneur ou le receveur rétablit le rejet. Dans un modèle de greffe de peau ou de cœur incompatible, l'effet de MyD88 n'a pas été confirmé (Goldstein et coll., 2003 ; Goldstein et Tesar, 2004 ; Walker et coll., 2006).

### Ligands endogènes des PRRs et rejet d'allogreffe

Différents ligands endogènes des PRRs ont été étudiés pour leur rôle dans le rejet d'allogreffe. Le hyaluronan (HA) et ses produits de dégradation ont un effet agoniste sur la réponse immune innée. En effet, il a été montré que le hyaluronan faisait différencier les cellules dendritiques au travers de TLR2 et TLR4. *In vivo*, l'expression de hyaluronan a été retrouvée augmentée dans les greffes de peau une semaine après transplantation (Tesar et coll., 2006).

Des études faites chez les receveurs de greffe de poumon ont montré une augmentation de HA chez les patients qui ont développé un syndrome de bronchiolite oblitérante (BOS), comparativement aux patients chez qui cette pathologie n'est pas survenue (Hadjiliadis et coll., 2002).

L'heparan sulfate, un autre ligand endogène des PRRs, et ses métabolites induisent une maturation des CD qui est dépendante de TLR4 (Johnson et coll., 2002). Il a également été montré que l'extra domaine A de la fibronectine active le TLR4 (Okamura et coll., 2001). Par ailleurs, le biglycan a une activité pro-inflammatoire et active les TLR4 et TLR2 (Schaefer et coll., 2005). Les HSP (*Heat Shock Protein*) 60, 70, et gp96 sont également des ligands endogènes des TLR4 et/ou TLR2 (Ohashi et coll., 2000 ; Vabulas et coll., 2002a et b). La protéine nucléaire HMGB1 (*High-Mobility Group Box 1 protein*) (Yu M et coll., 2006) largement conservée est un ligand de TLR4 et/ou TLR2, et a été identifiée comme responsable de lésions d'ischémie/reperfusion dans un modèle de foie. Des niveaux élevés de HMGB1 sont détectés après reperfusion et l'inhibition de la protéine avec un anticorps neutralisant diminue les signes d'inflammation (Tsong et coll., 2005).

### Ligands exogènes des PRRs et rejet d'allogreffe

Après greffe cardiaque, les niveaux circulants d'endotoxine sont augmentés (Methe et coll., 2004). Fréquemment chez ces patients, il existe une infection pulmonaire ce qui expose l'organisme aux molécules dérivées des micro-organismes (PAMPs) (Palmer et coll., 2003).

La présence d'infections virales peut aussi modifier la réponse allogénique et le rejet de greffe chez les rongeurs et dans des essais cliniques (Kazory et Ducloux, 2005a et b).

## **Lésions d'ischémie/reperfusion (I/R), réponse innée et rejet d'allogreffe**

L'I/R peut être à l'origine de la défaillance organique immédiate, du rejet aigu et du rejet chronique. Il est en général admis que l'immunité innée joue un rôle important dans les mécanismes de l'I/R (Zhai et coll., 2004).

### ***Lésions d'ischémie/reperfusion et greffe de cœur***

L'expression de TLR4 est augmentée dans le myocarde murin et humain qui présente des lésions d'I/R. Comparées aux souris normales, les souris déficientes en TLR4 ont une diminution des lésions d'infarctus de myocarde ainsi qu'une réduction de l'activation des MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*), une diminution de la translocation de NF-1B dans le noyau et une réduction de l'expression des ARNm de l'IL-1 $\beta$  et de l'IL-6, démontrant le rôle de TLR4 dans les lésions d'I/R du myocarde (Oyama et coll., 2004 ; Moniwa et coll., 2006). L'utilisation d'antagonistes de TLR4 (eritoran) a été testée chez le rongeur dans le but de réduire les lésions d'I/R dans le cœur. Le traitement diminue de façon significative la taille de l'infarctus du myocarde comparé aux témoins non traités et réduit également l'activation de NF- $\kappa$ B et la production de cytokines pro-inflammatoires.

### ***Lésions d'ischémie/reperfusion et greffe de foie***

Dans le foie, le développement des lésions d'I/R semble impliquer l'activation du récepteur TLR4 qui est dépendante de IRF-3 et indépendante de MyD88 (Zhai et coll., 2004).

Les cellules de Kupffer sont activées par l'endotoxine re-larguée par la circulation portale après I/R. On observe une augmentation de l'expression d'ARNm de TLR4, de même qu'une production de TNF- $\alpha$  inhibée par les anticorps anti-TLR4 (Peng et coll., 2004).

### ***Lésions d'ischémie/reperfusion et greffe de rein***

Les TLR2 et TLR4 ont également été décrits jouant un rôle dans des modèles d'I/R rénale chez les rongeurs (Leemans et coll., 2005). L'expression des ARN messagers et des protéines TLR2 et TLR4 est augmentée au niveau des cellules tissulaires de l'organe (cellules épithéliales) mais pas dans les cellules du système immunitaire.

D'une façon intéressante chez l'homme, les receveurs hétérozygotes pour l'un des deux polymorphismes TLR4 (ASP299Gly ou Thr399Ile) présentent une hypo-réponse au LPS (lipopolysaccharide) et une diminution de la fréquence des rejets aigus. Ces effets sont limités au receveur, le génotype du donneur n'ayant aucune incidence (Palmer et coll., 2003, 2005, 2006 et 2007).

Des résultats similaires ont été obtenus chez les receveurs de greffe rénale (Ducloux et coll., 2005).

## Effecteurs cellulaires et moléculaires du rejet d'allogreffe

De nombreux types cellulaires et moléculaires sont impliqués dans le rejet aigu d'allogreffe.

### Migration et infiltration des allogreffes : rôle des chimiokines

L'attraction de cellules mononuclées aux sites de l'inflammation nécessite une étroite interaction des signaux inflammatoires et des chimiokines. L'inhibition des chimiokines et de leurs récepteurs a montré une prolongation de la survie de l'allogreffe (Hancock, 2003). En particulier, les récepteurs des chimiokines comme CXCR3 et CCR5, dont l'expression est induite après activation des cellules T, jouent un rôle dans la migration de ces cellules (Hancock et coll., 2000a et b ; Gao et coll., 2001 ; Zhai et coll., 2006).

Une étude récente a montré, dans un modèle de greffe cardiaque, un effet de MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*) et CXCR3 dans la survie de la greffe seulement quand le receveur (et non le donneur) était déficient pour ces molécules (Haskova et coll., 2007).

Dans une étude chez l'homme, le nombre de cellules CXCR3+ dans une biopsie rénale augmente avec le rejet de greffe et diminue avec le traitement immunosuppresseur, ce qui suggère que CXCR3 pourrait être une bonne cible de traitement du rejet (Hoffmann et coll., 2006). Des résultats similaires ont été obtenus pour CXCR3 et CCR5 par un autre groupe (Panzer et coll., 2004).

Dans un modèle de greffe de poumon, il a été montré que durant le rejet aigu l'expression de CXCL9 augmentait parallèlement à l'infiltration des cellules mononucléaires exprimant CXCR3+, un récepteur de chimiokine liant CXCL9. L'inhibition de CXCL9 diminue l'infiltrat cellulaire et l'expression de CXCR3, conduisant à une réduction du rejet aigu (Belperio et coll., 2003).

L'inhibition de CCR5 et CXCR3 avec un antagoniste de CCR5, TAK-779 dans un modèle de greffe cardiaque prolonge significativement la survie d'allogreffe (rejet aigu et également chronique), ce qui confirme le rôle de CCR5 et CXCR3 dans le rejet (Akashi et coll., 2005).

Dans un modèle de greffe d'îlots chez la souris, il a été montré que l'expression de CCR2 augmentait après greffe. Quand le receveur était déficient en CCR2, une prolongation significative de la survie des îlots et une diminution de la réponse TH1 (*T helper-1*) a été décrite. Dans la même combinaison, aucun effet sur une greffe cardiaque n'a été observé. Ces résultats suggèrent une spécificité de tissu et de chimiokine dans la régulation de la réponse allospécifique et du rejet de greffe (Schroppel et coll., 2004).

L'inhibition de deux chimiokines, RANTES<sup>1</sup> et de MCP-1<sup>2</sup>, par thérapie génique prolonge la survie d'une greffe cardiaque (Fleury et coll., 2006).

### Cellules effectrices

Plusieurs types cellulaires ont un rôle important dans le rejet aigu d'allogreffe (Alegre et coll., 2007). Les cellules T CD4 jouent un rôle central dans le déclenchement de la réponse immune qui fait intervenir les cellules T CD4 Th1, Th2 et Th17. Les cellules T CD8 sont aussi importantes dans le rejet d'allogreffe. Ainsi, les T CD8 cytotoxiques jouent un rôle dans la phase effectrice, et les cellules T CD8 mémoire peuvent intervenir dans des réponses croisées. Un rôle important pour les cellules B et les alloanticorps dans le rejet aigu a été récemment décrit (Alegre et coll., 2007).

D'autres cellules comme les macrophages, les cellules NK, les éosinophiles, les mastocytes et les neutrophiles sont également impliquées dans différents modèles de rejet. Les macrophages contribuent à la lésion tissulaire du rejet. En effet, dans un modèle de rejet aigu de rein chez le rat, ces cellules représentent 40 à 60 % de l'infiltrat cellulaire et l'élimination des macrophages atténue le rejet aigu (Jose et coll., 2003). Les monocytes sont abondants dans les infiltrats rénaux des patients déplétés en cellules T (anti-CD52 et FK506 en monothérapie) (Salama et coll., 2007). Récemment, le rôle des plaquettes a été démontré dans le rejet d'allogreffe. Les plaquettes produisent des larges quantités de CD154 soluble qui agit sur les cellules dendritiques (Xu et coll., 2006).

Les cellules NK ont été identifiées dans l'infiltrat du greffon mais elles ne sont ni nécessaires, ni suffisantes aux mécanismes de rejet d'allogreffe. Des observations récentes ont mis en évidence le rôle des cellules NK dans le rejet d'allogreffe chez les souris déficientes en CD28. Dans ce modèle, une élimination des cellules NK par des anticorps anti-NK1.1 (Maier et coll., 2001 ; McNerney et coll., 2006) ou une inhibition du récepteur activateur des NK NKG2D (Kim et coll., 2007) induit une prolongation significative de la survie de l'allogreffe. Ces observations méritent une attention particulière en clinique dans les protocoles qui utilisent des molécules bloquant la co-stimulation des cellules NK.

Un infiltrat de cellules NK dans l'endomyocarde est de mauvais pronostic en greffe cardiaque (Sorrentino et coll., 2006). Un rôle pour les cellules NK a par ailleurs été montré dans les modèles d'induction de tolérance (Yu G et coll., 2006).

---

1. *Regulated on Activation Normal T-cell Expressed and Secreted*

2. *Monocyte Chemoattractant Protein*

Les polynucléaires neutrophiles infiltrent également les allogreffes au cours du rejet aigu. Il a été montré que les éosinophiles intervenaient dans des modèles de rejet et que leur activation dépendait d'une réponse T CD4+ de type TH2 (dépendant d'IL-4) (Braun et coll., 2000 ; Surquin et coll., 2005). Le marquage des éosinophiles est très positif dans les infiltrats de greffe intestinale après élimination des cellules T (Wu et coll., 2006).

Les neutrophiles contribuent au rejet d'allogreffe dans des modèles de blocage de la co-stimulation (El-Sawy et coll., 2005), ou en absence d'IFN- $\gamma$  (Miura et coll., 2003) ou d'IL-4 (Surquin et coll., 2005).

### **Cellules T mémoire (T<sub>m</sub>) et réponse allospécifique**

La présence de cellules T<sub>m</sub> capables de réagir avec des alloantigènes chez des individus sains a été mise en évidence par le groupe de Lombardi en 1990. Les auteurs ont montré que dans une réaction lymphocytaire mixte les cellules T naïves et aussi les cellules T<sub>m</sub> (LFA-3+) étaient capables de proliférer. Les T<sub>m</sub> montraient une prolifération plus rapide (détectée à partir du 3<sup>e</sup> jour) comme c'est le cas dans les réponses immunes de type secondaire (Akbar et coll., 1990).

Plusieurs publications ont suggéré une participation des cellules T<sub>m</sub> dans les mécanismes de rejet aigu d'allogreffe. En clinique, la présence de cellules T<sub>m</sub> avant la greffe est liée à une augmentation de la fréquence et de l'intensité des épisodes de rejet aigu (Ibrahim et coll., 1993a et b, 1995 ; Dollinger et coll., 1998). La réactivité des T<sub>m</sub> vis-à-vis des cellules du donneur a été mesurée et il a été démontré qu'elle était liée à la fréquence des épisodes de rejet (Heeger et coll., 1999 ; Augustine et coll., 2005). Des études plus récentes ont mesuré la réponse des T<sub>m</sub> aux alloantigènes par des tests PRT (*Panel of Reactive T cell assay*) et des ELISPOT IFN- $\gamma$  contre un panel de lignées B (Poggio et coll., 2007). Dans deux revues récentes, les groupes de Jones (Brook et coll., 2006) et Larsen (Koehn et coll., 2006) débattent des différents types de T<sub>m</sub>, de leur génération, de la réactivité croisée des alloantigènes avec d'autres antigènes et des options thérapeutiques.

Différentes hypothèses tentent d'élucider les mécanismes par lesquels les cellules T<sub>m</sub> peuvent reconnaître des alloantigènes sans les avoir « vus ».

### **Réactivité croisée entre alloantigènes et agents infectieux**

Plusieurs publications ont montré chez les rongeurs et chez l'homme que des cellules T<sub>m</sub> reconnaissant des antigènes viraux pouvaient reconnaître également des alloantigènes. D'une façon intéressante, il a été montré que des cellules CD8 qui reconnaissaient un épitope du virus Epstein Barr (EBV) associé à HLA-B8 montraient une réactivité croisée avec des alloantigènes parmi lesquels HLA-B44. Il faut remarquer que la combinaison donneur HLA-B8 et receveur HLA-B44 a été identifiée comme étant une combinaison avec un fort risque de rejet.

### ***Prolifération homéostatique***

Les cellules T prolifèrent en conditions de lymphopénie et dans une telle situation, il a été montré que des cellules T naïves pouvaient générer des Tm. Des lymphopénies peuvent être induites par des infections virales, des traitements immunosuppresseurs comme l'utilisation d'ATG (*AntiThymocyte Globulins*) ou d'anticorps anti-CD52. La génération de cellules T mémoire par infection virale ou par prolifération homéostatique peut prévenir l'induction de tolérance, dans des modèles bien établis de tolérance chez le rongeur (Valujskikh et coll., 2002 ; Zhai et coll., 2002 ; Wu et coll., 2004). Ces résultats montrent que les cellules Tm peuvent être une barrière pour l'induction de tolérance.

Il est donc nécessaire de développer des thérapeutiques visant à empêcher la génération des Tm ou à les éliminer. L'effet des immunosuppresseurs sur les Tm a commencé à être étudié. Les cellules Tm CD4+ sont résistantes aux stéroïdes, à la deoxyspergualin et au sirolimus. En revanche, le tacrolimus et la ciclosporine A inhibent leur prolifération et leur activation *in vitro* (Pearl et coll., 2005). Des résultats récents montrent que les Tm dépendent, pour une activation optimale, de molécules de co-stimulation différentes de celles qui agissent sur les cellules naïves comme ICOS/ICOSL, OX40/OX40L, CD27/CD70 (Croft, 2003 ; Wu et coll., 2004). Il a été montré récemment que le blocage de la voie CD27/CD70 prolonge la survie de la greffe cardiaque chez la souris (Yamada et coll., 2005). Par ailleurs, l'inhibition de l'IL-7 est capable d'inhiber le rejet d'allogreffe induit par des cellules Tm sans inhiber les cellules Treg (Wang et coll., 2006).

Dans les modèles animaux, la présence de cellules CD8 mémoire pourrait empêcher l'induction de tolérance par blocage de la co-stimulation (Trambley et coll., 1999).

Chez le primate, l'élimination des cellules T CD8 mémoires permet l'établissement de la tolérance induite par administration de moelle osseuse et blocage de la co-stimulation (Koyama et coll., 2007). Les auteurs émettent l'hypothèse que les cellules CD8 mémoire pourraient être résistantes au blocage de la co-stimulation.

Une étude faite chez les transplantés du foie a montré que la présence d'un nombre élevé de cellules CD8 avec un phénotype mémoire avant la greffe allait de pair avec une survie réduite de la greffe (Tanaka et coll., 2006).

### **Réponse B, anticorps et rejet d'allogreffe**

L'introduction du marquage C4d dans les biopsies rénales et l'utilisation de méthodes plus sensibles pour la détection d'alloanticorps spécifiques du donneur ont démontré l'importance des alloanticorps dans l'induction de rejets humoraux aigus (RHA). Le rôle des alloanticorps dans les mécanismes du

rejet aigu a été mis en évidence dans les années 1990 par le groupe de Halloran qui a décrit qu'un rejet aigu avec mauvais pronostic était associé avec la production d'anticorps anti-donneur après transplantation (Halloran et coll., 1990). Au même moment, Feucht a démontré que la présence de dépôts de C4d dans les capillaires péri-tubulaires (CPT) était associée à une survie inférieure à un an (Feucht et coll., 1993). Dans une revue récente, Terasaki et coll. proposent d'améliorer la détection des anticorps après transplantation par la quantification et l'identification des cibles des alloanticorps. Ils suggèrent que cette analyse pourrait être importante dans le suivi des patients et permettrait d'ajuster les traitements (Cai et Terasaki, 2008).

Les critères pour le diagnostic du rejet humoral aigu ont été établis récemment pour le rein (d'après *Banff working group*, Racusen et coll., 2003). Au moins un critère de chaque type doit être positif pour le diagnostiquer :

- critères morphologiques : neutrophiles et/ou monocytes/macrophages dans les capillaires péri-tubulaires et/ou glomérule, nécrose artérielle fibrineuse, thrombose dans les capillaires glomérulaires, artérioles et/ou petites artères, lésions tubulaires aiguës ;
- critères immunohistologiques : dépôts de C4d dans les CPT, Ig et ou complément dans les nécroses fibrineuses des artères ;
- critères sérologiques : présence d'anticorps anti-donneur (HLA et non HLA) circulants.

Ces critères ont été optimisés lors de la 9<sup>e</sup> conférence Banff (Solez et coll., 2008). Le niveau de dépôts de C4d a été évalué et quantifié : C4d0 négatif ; C4d1 minimal (< 10 % de la surface de la biopsie) ; C4d2 focal (10 à 50 %) et C4d3 diffus (> 50 %). La situation clinique de C4d + sans évidences morphologiques de rejet a été ajoutée. La relation entre cette situation et le devenir de la greffe n'a pas encore été établie et nécessite plus d'études. Cette situation est connue dans les modèles de xénogreffes comme un mécanisme d'accommodation ; elle est également fréquente dans les greffes ABO incompatibles. Cependant, il a été montré que les patients qui présentaient des dépôts de C4d + sans évidences morphologiques de rejet bénéficiaient d'un traitement anti-rejet (Dickenmann et coll., 2006), ce qui suggère que la situation de dépôts de C4d + sans évidences morphologiques de rejet pourrait être associée à un rejet humoral aigu.

La « théorie humorale en transplantation » de Terasaki et Cai (2005) propose que les greffes sont rejetées par les anticorps et non pas par les cellules. Les cellules sont nécessaires car elles produisent des facteurs et des anticorps mais ce sont les anticorps qui détruisent la greffe. Si les anticorps sont les effecteurs du rejet, leur élimination devrait permettre de diminuer le traitement immunosuppresseif.

Une étude concernant des rejets aigus rénaux a mis en évidence chez les patients la présence d'anticorps anti-donneur dans les deux types de rejet,

cellulaire et humoral (Zhang et coll., 2005). Dans des biopsies rénales, une semaine après transplantation, des dépôts de C4d ont été trouvés dans 33 % des biopsies qui montraient un rejet aigu et seulement dans 3 % des biopsies sans rejet (Koo et coll., 2004). Une étude faite six mois après transplantation a montré dans les biopsies rénales des dépôts diffus de C4d dans 42 % des organes des patients ayant développé un rejet aigu par la suite. La perte du greffon après un an était de 65 % chez les patients positifs pour C4d comparé à 33 % chez les négatifs (Poduval et coll., 2005).

Dans une étude de receveurs de greffe de poumon, l'apparition d'anticorps a été corrélée avec un rejet aigu chez 10 des 14 patients avec anticorps et chez 11 des 37 patients sans anticorps (Girnit et coll., 2005). Dans un modèle animal de transplantation cardiaque, il a été démontré que les cellules B étaient importantes pour la présentation indirecte des alloantigènes et pour le rejet aigu (Noorchashm et coll., 2006). La présence de cellules B dans les infiltrats est, en général, un signe de mauvais pronostic pour la survie de la greffe. Mais ceci n'a pas été confirmé dans toutes les études. Dans les biopsies de greffon rénal, un profil d'expression de gènes avec une « signature de cellule B » est corrélé avec un mauvais pronostic (Sarwal et coll., 2003). La présence de cellules CD20+ infiltrant le greffon rénal, en absence de marquage C4d (sans Ac), avec un rejet aigu a été associée à une résistance aux corticoïdes et à un mauvais pronostic (Hippen et coll., 2005).

Des allogreffes cardiaques avec des cellules B infiltrantes sont associées à un haut risque de rejets récurrents (Sorrentino et coll., 2006) mais répondent au traitement anti-CD20 (Alausa et coll., 2005). Une étude intéressante a montré une production *in situ* d'anticorps et l'apparition de « centres germinaux » dans le greffon (Thaumat et coll., 2005). Dans une étude rétrospective de 92 patients avec des biopsies pour dysfonctionnement rénal, les dépôts de C4d et les anticorps spécifiques du donneur ont été recherchés et le devenir de la greffe a été étudié. Les résultats montrent un marquage C4d diffus dans 15 % des cas et un marquage focal dans 24 % des cas. La greffe échoue chez 36 % des patients avec marquage diffus, chez 23 % des patients avec marquages focaux et seulement chez 7 % des patients avec des marquages négatifs, entre un mois et 15 ans après transplantation. Des anticorps anti-donneur ont été retrouvés uniquement chez les patients avec un marquage C4d diffus. Dans ce groupe, 100 % des greffes ont été rejetées (Worthington et coll., 2007). Une étude faite sur des biopsies cardiaques a montré un dépôt de C4d au niveau des capillaires myocardiques que corrobore la présence d'anticorps anti-donneur dans 21 cas sur 25 tandis que seulement 7 des 60 greffons sans anticorps ont un marquage C4d (Smith et coll., 2005).

Une étude a comparé la présence de C4d avec l'appariement HLA entre donneur et receveur en transplantation hépatique. Les dépôts de C4d sont retrouvés chez 82 % des patients avec un *cross match* positif et seulement

chez 32 % des patients avec un *cross match* négatif ce qui montre que la présence d'alloanticorps est corrélée avec un rejet humoral et une faible survie de la greffe (Sakashita et coll., 2007).

### **Antigènes cibles des alloanticorps**

Les alloanticorps générés contre l'organe du donneur peuvent reconnaître différents types d'antigènes : les antigènes HLA du complexe majeur d'histocompatibilité (de classe I et II), les antigènes apparentés à HLA MICA et MICB (*MHC class I-related molecules A and B*), les antigènes mineurs d'histocompatibilité, les antigènes non-HLA incluant le récepteur de l'angiotensine II type 1 (Dragun et coll., 2005), la vimentine (Mahesh et coll., 2007), la myosine, les antigènes de groupe sanguin ABO, le perlecan, le collagène IV et VI et l'agrine (Joosten et coll., 2005). Cependant, les anticorps le plus souvent retrouvés sont ceux qui reconnaissent les molécules HLA et ils sont identifiés par des techniques de « *crossmatching* » avant la transplantation. Dans les dernières années, un grand intérêt a été porté à l'étude des anticorps dirigés contre des antigènes non-HLA dans les mécanismes du rejet d'allogreffe (pour revue récente, voir Sumitran-Holgersson, 2008).

Le groupe de Opelz a étudié le rôle des anticorps anti-MICA préexistants au moment de la transplantation dans le devenir de la greffe rénale chez 1 910 receveurs (Zou et coll., 2007). Leurs résultats montrent que la présence d'anticorps anti-MICA est associée à un rejet de greffe. Cet effet est plus important dans les greffes qui sont bien appariées au niveau HLA. D'autres études ont montré que la production d'anticorps anti-MICA après transplantation rénale était corrélée à un mauvais pronostic de la greffe (Mizutani et coll., 2005). Ces résultats ont été confirmés dans une étude faite sur des receveurs de greffe cardiaque (Suarez-Alvarez et coll., 2007). Récemment, dans deux études prospectives de greffe rénale, à un et quatre ans, Terasaki et coll. (2007) ont démontré que les anticorps anti-HLA et anti-MICA sont associés au rejet d'allogreffe. Il a été montré que les anticorps anti-MICA pourraient être à l'origine de la formation des lésions en induisant l'apoptose des cellules endothéliales (Le Bas-Bernardet et coll., 2003). À l'opposé, la détection de la forme soluble de MICA chez les receveurs de greffe cardiaque est de bon pronostic (Suarez-Alvarez et coll., 2007).

**En conclusion**, deux mécanismes immunologiques généraux sont mis en jeu au cours du rejet d'allogreffe, la réponse innée et la réponse adaptative. La prévention du rejet commence bien avant la transplantation et nécessite après transplantation un suivi immunologique afin de repérer précocement le rejet d'allogreffe. Une meilleure compréhension des mécanismes du rejet d'allogreffe pourrait permettre d'identifier les couples donneur-receveur à risque et de mieux cibler les traitements immunosuppresseurs.

## BIBLIOGRAPHIE

AKASHI S, SHO M, KASHIZUKA H, HAMADA K, IKEDA N, et coll. A novel small-molecule compound targeting CCR5 and CXCR3 prevents acute and chronic allograft rejection. *Transplantation* 2005, **80** : 378-384

AKBAR AN, AMLOT PL, TIMMS A, LOMBARDI G, LECHLER R, JANOSSY G. The development of primed/memory CD8+ lymphocytes in vitro and in rejecting kidneys after transplantation. *Clin Exp Immunol* 1990, **81** : 225-231

ALAUSA M, ALMAGRO U, SIDDIQI N, ZUIDERWEG R, MEDIPALLI R, HARIHARAN S. Refractory acute kidney transplant rejection with CD20 graft infiltrates and successful therapy with rituximab. *Clin Transplant* 2005, **19** : 137-140

ALEGRE ML, FLORQUIN S, GOLDMAN M. Cellular mechanisms underlying acute graft rejection: time for reassessment. *Curr Opin Immunol* 2007, **19** : 563-568

ANDERSON CC, MATZINGER P. Immunity or tolerance: opposite outcomes of micro-chimerism from skin grafts. *Nat Med* 2001, **7** : 80-87

AUGUSTINE JJ, SIU DS, CLEMENTE MJ, SCHULAK JA, HEEGER PS, HRICIK DE. Pre-transplant IFN-gamma ELISPOTs are associated with post-transplant renal function in African American renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2005, **5** : 1971-1975

BELPERIO JA, KEANE MP, BURDICK MD, LYNCH JP 3RD, ZISMAN DA, et coll. Role of CXCL9/CXCR3 chemokine biology during pathogenesis of acute lung allograft rejection. *J Immunol* 2003, **171** : 4844-4852

BINGAMAN AW, HA J, WAITZE SY, DURHAM MM, CHO HR, et coll. Vigorous allograft rejection in the absence of danger. *J Immunol* 2000, **164** : 3065-3071

BRAUN MY, DESALLE F, LE MOINE A, PRETOLANI M, MATTHYS P, et coll. IL-5 and eosinophils mediate the rejection of fully histoincompatible vascularized cardiac allografts: regulatory role of alloreactive CD8(+) T lymphocytes and IFN-gamma. *Eur J Immunol* 2000, **30** : 1290-1296

BROOK MO, WOOD KJ, JONES ND. The impact of memory T cells on rejection and the induction of tolerance. *Transplantation* 2006, **82** : 1-9

CAI J, TERASAKI PI. Humoral theory of transplantation: mechanism, prevention, and treatment. *Hum Immunol* 2005a, **66** : 334-342

CAI J, TERASAKI PI. Human leukocyte antigen antibodies for monitoring transplant patients. *Surg Today* 2005b, **35** : 605-612

CAI J, TERASAKI PI. Post-transplantation antibody monitoring and HLA antibody epitope identification. *Curr Opin Immunol* 2008, **20** : 602-606

CHALASANI G, LI Q, KONIECZNY BT, SMITH-DIGGS L, WROBEL B, et coll. The allograft defines the type of rejection (acute versus chronic) in the face of an established effector immune response. *J Immunol* 2004, **172** : 7813-7820

CHRISTOPHER K, MUELLER TF, MA C, LIANG Y, PERKINS DL. Analysis of the innate and adaptive phases of allograft rejection by cluster analysis of transcriptional profiles. *J Immunol* 2002, **169** : 522-530

CROFT M. Costimulation of T cells by OX40, 4-1BB, and CD27. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003, **14** : 265-273

DICKENMANN M, STEIGER J, DESCOEUDRES B, MIHATSCH M, NICKELEIT V. The fate of C4d positive kidney allografts lacking histological signs of acute rejection. *Clin Nephrol* 2006, **65** : 173-179

DOLLINGER MM, HOWIE SE, PLEVRIS JN, GRAHAM AM, HAYES PC, et coll. Intrahepatic proliferation of 'naive' and 'memory' T cells during liver allograft rejection: primary immune response within the allograft. *Faseb J* 1998, **12** : 939-947

DRAGUN D, MULLER DN, BRASEN JH, FRITSCH L, NIEMINEN-KELHA M, et coll. Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Engl J Med* 2005, **352** : 558-569

DUCLoux D, DESCHAMPS M, YANNARAKI M, FERRAND C, BAMOULID J, et coll. Relevance of Toll-like receptor-4 polymorphisms in renal transplantation. *Kidney Int* 2005, **67** : 2454-2461

EL-SAWY T, BELPERIO JA, STRIETER RM, REMICK DG, FAIRCHILD RL. Inhibition of polymorphonuclear leukocyte-mediated graft damage synergizes with short-term costimulatory blockade to prevent cardiac allograft rejection. *Circulation* 2005, **112** : 320-331

FEUCHT HE, SCHNEEBERGER H, HILLEBRAND G, BURKHARDT K, WEISS M, et coll. Capillary deposition of C4d complement fragment and early renal graft loss. *Kidney Int* 1993, **43** : 1333-1338

FLEURY S, LI J, SIMEONI E, FIORINI E, VON SEGESSER LK, et coll. Gene transfer of RANTES and MCP-1 chemokine antagonists prolongs cardiac allograft survival. *Gene Ther* 2006, **13** : 1104-1109

GAO W, FAIA KL, CSIZMADIA V, SMILEY ST, SOLER D, et coll. Beneficial effects of targeting CCR5 in allograft recipients. *Transplantation* 2001, **72** : 1199-1205

GIRNITA AL, DUQUESNOY R, YOUSEM SA, IACONO AT, CORCORAN TE, et coll. HLA-specific antibodies are risk factors for lymphocytic bronchiolitis and chronic lung allograft dysfunction. *Am J Transplant* 2005, **5** : 131-138

GOLDSTEIN DR, TESAR BM. Toll-like receptors and allograft rejection. *Am J Respir Crit Care Med* 2004, **169** : 971; author reply 971-972

GOLDSTEIN DR, TESAR BM, AKIRA S, LAKKIS FG. Critical role of the Toll-like receptor signal adaptor protein MyD88 in acute allograft rejection. *J Clin Invest* 2003, **111** : 1571-1578

GOLSHAYAN D, BUHLER L, LECHLER RI, PASCUAL M. From current immunosuppressive strategies to clinical tolerance of allografts. *Transpl Int* 2007, **20** : 12-24

HADJILIADIS D, DAVIS RD, PALMER SM. Is transplant operation important in determining posttransplant risk of bronchiolitis obliterans syndrome in lung transplant recipients? *Chest* 2002, **122** : 1168-1175

HALLORAN PF, WADGYMAR A, RITCHIE S, FALK J, SOLEZ K, SRINIVASA NS. The significance of the anti-class I antibody response. I. Clinical and pathologic features of anti-class I-mediated rejection. *Transplantation* 1990, **49** : 85-91

HANCOCK WW. Chemokine receptor-dependent alloresponses. *Immunol Rev* 2003, **196** : 37-50

HANCOCK WW, GAO W, FAIA KL, CSIZMADIA V. Chemokines and their receptors in allograft rejection. *Curr Opin Immunol* 2000a, **12** : 511-516

HANCOCK WW, LU B, GAO W, CSIZMADIA V, FAIA K, et coll. Requirement of the chemokine receptor CXCR3 for acute allograft rejection. *J Exp Med* 2000b, **192** : 1515-1520

HASKOVA Z, IZAWA A, CONTRERAS AG, FLYNN E, BOULDAY G, BRISCOE DM. Organ-specific differences in the function of MCP-1 and CXCR3 during cardiac and skin allograft rejection. *Transplantation* 2007, **83** : 1595-1601

HE H, STONE JR, PERKINS DL. Analysis of robust innate immune response after transplantation in the absence of adaptative immunity. *Transplantation* 2002, **73** : 853-861

HE H, STONE JR, PERKINS DL. Analysis of differential immune responses induced by innate and adaptive immunity following transplantation. *Immunology* 2003, **109** : 185-196

HEEGER PS, GREENSPAN NS, KUHLENSCHMIDT S, DEJELO C, HRICIK DE, et coll. Pretransplant frequency of donor-specific, IFN-gamma-producing lymphocytes is a manifestation of immunologic memory and correlates with the risk of posttransplant rejection episodes. *J Immunol* 1999, **163** : 2267-2275

HERRERA OB, GOLSHAYAN D, TIBBOTT R, SALCIDO OCHOA F, JAMES MJ, et coll. A novel pathway of alloantigen presentation by dendritic cells. *J Immunol* 2004, **173** : 4828-4837

HIPPEN BE, DEMATTOS A, COOK WJ, KEW CE 2ND, GASTON RS. Association of CD20+ infiltrates with poorer clinical outcomes in acute cellular rejection of renal allografts. *Am J Transplant* 2005, **5** : 2248-2252

HOFFMANN U, SEGERER S, RUMMELE P, KRUGER B, PIETRZYK M, et coll. Expression of the chemokine receptor CXCR3 in human renal allografts--a prospective study. *Nephrol Dial Transplant* 2006, **21** : 1373-1381

IBRAHIM S, DAWSON DV, KILLENBERG PG, SANFILIPPO F. The pattern and phenotype of T-cell infiltration associated with human liver allograft rejection. *Hum Pathol* 1993a, **24** : 1365-1370

IBRAHIM S, DAWSON DV, VAN TRIGT P, SANFILIPPO F. Differential infiltration by CD45RO and CD45RA subsets of T cells associated with human heart allograft rejection. *Am J Pathol* 1993b, **142** : 1794-1803

IBRAHIM S, DAWSON DV, SANFILIPPO F. Predominant infiltration of rejecting human renal allografts with T cells expressing CD8 and CD45RO. *Transplantation* 1995, **59** : 724-728

JANEWAY CA JR., MEDZHITOV R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol* 2002, **20** : 197-216. Epub 2001 Oct 4

JOHNSON GB, BRUNN GJ, KODAIRA Y, PLATT JL. Receptor-mediated monitoring of tissue well-being via detection of soluble heparan sulfate by Toll-like receptor 4. *J Immunol* 2002, **168** : 5233-5239

JOOSTEN SA, SIJPKENS YW, VAN HAM V, TROUW LA, VAN DER VLAG J, et coll. Antibody response against the glomerular basement membrane protein agrin in patients with transplant glomerulopathy. *Am J Transplant* 2005, **5** : 383-393

JOSE MD, IKEZUMI Y, VAN ROOIJEN N, ATKINS RC, CHADBAN SJ. Macrophages act as effectors of tissue damage in acute renal allograft rejection. *Transplantation* 2003, **76** : 1015-1022

KAZORY A, DUCLOUX D. Cytomegalovirus and thromboembolism in renal transplantation. *Transplantation* 2005a, **79** : 248-249

KAZORY A, DUCLOUX D. Clinical relevance of BK virus quantitative PCR in renal transplantation. *Intervirology* 2005b, **48** : 405 ; author reply 406-407

KIM J, CHANG CK, HAYDEN T, LIU FC, BENJAMIN J, et coll. The activating immunoreceptor NKG2D and its ligands are involved in allograft transplant rejection. *J Immunol* 2007, **179** : 6416-6420

KOEHN B, GANGAPPA S, MILLER JD, AHMED R, LARSEN CP. Patients, pathogens, and protective immunity: the relevance of virus-induced alloreactivity in transplantation. *J Immunol* 2006, **176** : 2691-2696

KOO DD, ROBERTS IS, QUIROGA I, PROCTER J, BARNARDO MC, et coll. C4d deposition in early renal allograft protocol biopsies. *Transplantation* 2004, **78** : 398-403

KOTSCH K, FRANCUSKI M, PASCHER A, KLEMZ R, SEIFERT M, et coll. Improved long-term graft survival after HO-1 induction in brain-dead donors. *Am J Transplant* 2006, **6** : 477-486

KOYAMA I, NADAZDIN O, BOSKOVIC S, OCHIAI T, SMITH RN, et coll. Depletion of CD8 memory T cells for induction of tolerance of a previously transplanted kidney allograft. *Am J Transplant* 2007, **7** : 1055-1061

LAND W, SCHNEEBERGER H, SCHLEIBNER S, ILLNER WD, ABENDROTH D, et coll. The beneficial effect of human recombinant superoxide dismutase on acute and chronic rejection events in recipients of cadaveric renal transplants. *Transplantation* 1994, **57** : 211-217

LAND WG. The role of postischemic reperfusion injury and other nonantigen-dependent inflammatory pathways in transplantation. *Transplantation* 2005, **79** : 505-514

LAROSA DF, RAHMAN AH, TURKA LA. The innate immune system in allograft rejection and tolerance. *J Immunol* 2007, **178** : 7503-7509

LE BAS-BERNARDET S, HOURMANT M, COUPEL S, BIGNON JD, SOULILLOU JP, CHARREAU B. Non-HLA-type endothelial cell reactive alloantibodies in pre-transplant sera of kidney recipients trigger apoptosis. *Am J Transplant* 2003, **3** : 167-177

LEEMANS JC, STOKMAN G, CLAESSEN N, ROUSCHOP KM, TESKE GJ, et coll. Renal-associated TLR2 mediates ischemia/reperfusion injury in the kidney. *J Clin Invest* 2005, **115** : 2894-2903

MAHESH B, LEONG HS, MCCORMACK A, SARATHCHANDRA P, HOLDER A, ROSE ML. Autoantibodies to vimentin cause accelerated rejection of cardiac allografts. *Am J Pathol* 2007, **170** : 1415-1427

MAIER S, TERTILT C, CHAMBRON N, GERAUER K, HUSER N, et coll. Inhibition of natural killer cells results in acceptance of cardiac allografts in CD28<sup>-/-</sup> mice. *Nat Med* 2001, **7** : 557-562

MARKS R, FINKE J. Biologics in the prevention and treatment of graft rejection. *Springer Semin Immunopathol* 2006, **27** : 457-476

MASINI E, CUZZOCREA S, MAZZON E, MARZOCCA C, MANNAIONI PF, SALVEMINI D. Protective effects of M40403, a selective superoxide dismutase mimetic, in myocardial ischaemia and reperfusion injury in vivo. *Br J Pharmacol* 2002, **136** : 905-917

MATZINGER P. Tolerance, danger, and the extended family. *Annu Rev Immunol* 1994, **12** : 991-1045

MCNERNEY ME, LEE KM, ZHOU P, MOLINERO L, MASHAYEKHI M, et coll. Role of natural killer cell subsets in cardiac allograft rejection. *Am J Transplant* 2006, **6** : 505-513

METHE H, ZIMMER E, GRIMM C, NABAUER M, KOGLIN J. Evidence for a role of toll-like receptor 4 in development of chronic allograft rejection after cardiac transplantation. *Transplantation* 2004, **78** : 1324-1331

MIURA M, EL-SAWY T, FAIRCHILD RL. Neutrophils mediate parenchymal tissue necrosis and accelerate the rejection of complete major histocompatibility complex-disparate cardiac allografts in the absence of interferon-gamma. *Am J Pathol* 2003, **162** : 509-519

MIZUTANI K, TERASAKI P, ROSEN A, ESQUENAZI V, MILLER J, et coll. Serial ten-year follow-up of HLA and MICA antibody production prior to kidney graft failure. *Am J Transplant* 2005, **5** : 2265-2272

MOLLEN KP, ANAND RJ, TSUNG A, PRINCE JM, LEVY RM, BILLIAR TR. Emerging paradigm: toll-like receptor 4-sentinel for the detection of tissue damage. *Shock* 2006, **26** : 430-437

MONIWA N, AGATA J, HAGIWARA M, URA N, SHIMAMOTO K. The role of bradykinin B1 receptor on cardiac remodeling in stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHR-SP). *Biol Chem* 2006, **387** : 203-209

NOORCHASHM H, REED AJ, ROSTAMI SY, MOZAFFARI R, ZEKAVAT G, et coll. B cell-mediated antigen presentation is required for the pathogenesis of acute cardiac allograft rejection. *J Immunol* 2006, **177** : 7715-7722

OHASHI K, BURKART V, FLOHE S, KOLB H. Cutting edge: heat shock protein 60 is a putative endogenous ligand of the toll-like receptor-4 complex. *J Immunol* 2000, **164** : 558-561

OKAMURA Y, WATARI M, JERUD ES, YOUNG DW, ISHIZAKA ST, et coll. The extra domain A of fibronectin activates Toll-like receptor 4. *J Biol Chem* 2001, **276** : 10229-10233

OYAMA J, BLAIS C JR., LIU X, PU M, KOBZIK L, et coll. Reduced myocardial ischemia-reperfusion injury in toll-like receptor 4-deficient mice. *Circulation* 2004, **109** : 784-789

PALMER SM, BURCH LH, DAVIS RD, HERCZYK WF, HOWELL DN, et coll. The role of innate immunity in acute allograft rejection after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2003, **168** : 628-632

PALMER SM, BURCH LH, TRINDADE AJ, DAVIS RD, HERCZYK WF, et coll. Innate immunity influences long-term outcomes after human lung transplant. *Am J Respir Crit Care Med* 2005, **171** : 780-785

PALMER SM, BURCH LH, MIR S, SMITH SR, KUO PC, et coll. Donor polymorphisms in Toll-like receptor-4 influence the development of rejection after renal transplantation. *Clin Transplant* 2006, **20** : 30-36

PALMER SM, KLIMECKI W, YU L, REINSMOEN NL, SNYDER LD, et coll. Genetic regulation of rejection and survival following human lung transplantation by the innate immune receptor CD14. *Am J Transplant* 2007, **7** : 693-699

PANZER U, REINKING RR, STEINMETZ OM, ZAHNER G, SUDBECK U, et coll. CXCR3 and CCR5 positive T-cell recruitment in acute human renal allograft rejection. *Transplantation* 2004, **78** : 1341-1350

PEARL JP, PARRIS J, HALE DA, HOFFMANN SC, BERNSTEIN WB, et coll. Immunocompetent T-cells with a memory-like phenotype are the dominant cell type following antibody-mediated T-cell depletion. *Am J Transplant* 2005, **5** : 465-474

PENG Y, GONG JP, LIU CA, LI XH, GAN L, LI SB. Expression of toll-like receptor 4 and MD-2 gene and protein in Kupffer cells after ischemia-reperfusion in rat liver graft. *World J Gastroenterol* 2004, **10** : 2890-2893

PODUVAL RD, KADAMBI PV, JOSEPHSON MA, COHN RA, HARLAND RC, et coll. Implications of immunohistochemical detection of C4d along peritubular capillaries in late acute renal allograft rejection. *Transplantation* 2005, **79** : 228-235

POGGIO ED, AUGUSTINE JJ, CLEMENTE M, DANZIG JM, VOLOKH N, et coll. Pretransplant cellular alloimmunity as assessed by a panel of reactive T cells assay correlates with acute renal graft rejection. *Transplantation* 2007, **83** : 847-852

PORT FK, DYKSTRA DM, MERION RM, WOLFE RA. Organ donation and transplantation trends in the USA, 2003. *Am J Transplant* 2004, **4** (Suppl 9) : 7-12

RACUSEN LC, COLVIN RB, SOLEZ K, MIHATSCH MJ, HALLORAN PF, et coll. Antibody-mediated rejection criteria - an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant* 2003, **3** : 708-714

SAKASHITA H, HAGA H, ASHIHARA E, WEN MC, TSUJI H, et coll. Significance of C4d staining in ABO-identical/compatible liver transplantation. *Mod Pathol* 2007, **20** : 676-684

SALAMA AD, WOMER KL, SAYEGH MH. Clinical transplantation tolerance: many rivers to cross. *J Immunol* 2007, **178** : 5419-5423

SARWAL M, CHUA MS, KAMBHAM N, HSIEH SC, SATTERWHITE T, et coll. Molecular heterogeneity in acute renal allograft rejection identified by DNA microarray profiling. *N Engl J Med* 2003, **349** : 125-138

SCHAEFER L, BABELOVA A, KISS E, HAUSSER HJ, BALIOVA M, et coll. The matrix component biglycan is proinflammatory and signals through Toll-like receptors 4 and 2 in macrophages. *J Clin Invest* 2005, **115** : 2223-2233

SCHROPPEL B, ZHANG N, CHEN P, ZANG W, CHEN D, et coll. Differential expression of chemokines and chemokine receptors in murine islet allografts: the role of CCR2 and CCR5 signaling pathways. *J Am Soc Nephrol* 2004, **15** : 1853-1861

SMITH RN, BROUSAIDES N, GRAZETTE L, SAIDMAN S, SEMIGRAN M, et coll. C4d deposition in cardiac allografts correlates with alloantibody. *J Heart Lung Transplant* 2005, **24** : 1202-1210

SOLEZ K, COLVIN RB, RACUSEN LC, HAAS M, SIS B, et coll. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant* 2008, **8** : 753-760

SORRENTINO C, SCARINCI A, D'ANTUONO T, PICCIRILLI M, DI NICOLA M, et coll. Endomyocardial infiltration by B and NK cells foreshadows the recurrence of cardiac allograft rejection. *J Pathol* 2006, **209** : 400-410

SUAREZ-ALVAREZ B, LOPEZ-VAZQUEZ A, GONZALEZ MZ, FDEZ-MORERA JL, DIAZ-MOLINA B, et coll. The relationship of anti-MICA antibodies and MICA expression with heart allograft rejection. *Am J Transplant* 2007, **7** : 1842-1848

SUMITRAN-HOLGERSSON S. Relevance of MICA and other non-HLA antibodies in clinical transplantation. *Curr Opin Immunol* 2008, **20** : 607-613

SURQUIN M, LE MOINE A, FLAMAND V, ROMBAUT K, DEMOOR FX, et coll. IL-4 deficiency prevents eosinophilic rejection and uncovers a role for neutrophils in the rejection of MHC class II disparate skin grafts. *Transplantation* 2005, **80** : 1485-1492

TAHARA M, NAKAYAMA M, JIN MB, FUJITA M, SUZUKI T, et coll. A radical scavenger, edaravone, protects canine kidneys from ischemia-reperfusion injury after 72 hours of cold preservation and autotransplantation. *Transplantation* 2005, **80** : 213-221

TANAKA K, OZAWA K, TERAMUKAI S, TAKADA Y, EGAWA H, et coll. Classification of human liver transplant recipients by their preoperative CD8+ T cell subpopulation and its relation to outcome. *Liver Transpl* 2006, **12** : 792-800

TERASAKI PI, CAI J. Humoral theory of transplantation: further evidence. *Curr Opin Immunol* 2005, **17** : 541-545

TERASAKI PI, OZAWA M, CASTRO R. Four-year follow-up of a prospective trial of HLA and MICA antibodies on kidney graft survival. *Am J Transplant* 2007, **7** : 408-415

TESAR BM, JIANG D, LIANG J, PALMER SM, NOBLE PW, GOLDSTEIN DR. The role of hyaluronan degradation products as innate alloimmune agonists. *Am J Transplant* 2006, **6** : 2622-2635

THAUNAT O, FIELD AC, DAI J, LOUEDEC L, PATEY N, et coll. Lymphoid neogenesis in chronic rejection: evidence for a local humoral alloimmune response. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, **102** : 14723-14728

TRAMBLEY J, BINGAMAN AW, LIN A, ELWOOD ET, WAITZE SY, et coll. Asialo GM1(+) CD8(+) T cells play a critical role in costimulation blockade-resistant allograft rejection. *J Clin Invest* 1999, **104** : 1715-1722

TSUNG A, SAHAI R, TANAKA H, NAKAO A, FINK MP, et coll. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion. *J Exp Med* 2005, **201** : 1135-1143

VABULAS RM, WAGNER H, SCHILD H. Heat shock proteins as ligands of toll-like receptors. *Curr Top Microbiol Immunol* 2002a, **270** : 169-184

VABULAS RM, AHMAD-NEJAD P, GHOSE S, KIRSCHNING CJ, ISSELS RD, WAGNER H. HSP70 as endogenous stimulus of the Toll/interleukin-1 receptor signal pathway. *J Biol Chem* 2002b, **277** : 15107-15112

VALUJSKIKH A, PANTENBURG B, HEEGER PS. Primed allospecific T cells prevent the effects of costimulatory blockade on prolonged cardiac allograft survival in mice. *Am J Transplant* 2002, **2** : 501-509

WALKER WE, NASR IW, CAMIRAND G, TESAR BM, BOOTH CJ, GOLDSTEIN DR. Absence of innate MyD88 signaling promotes inducible allograft acceptance. *J Immunol* 2006, **177** : 5307-5316

WANG Y, DAI H, LIU Z, CHENG X, TELLIDES G, DAI Z. Neutralizing IL-7 promotes long-term allograft survival induced by CD40/CD40L costimulatory blockade. *Am J Transplant* 2006, **6** : 2851-2860

WORTHINGTON JE, MCEWEN A, MCWILLIAM LJ, PICTON ML, MARTIN S. Association between C4d staining in renal transplant biopsies, production of donor-specific HLA antibodies, and graft outcome. *Transplantation* 2007, **83** : 398-403

WU T, BOND G, MARTIN D, NALESNIK MA, DEMETRIS AJ, ABU-ELMAGD K. Histopathologic characteristics of human intestine allograft acute rejection in patients pretreated with thymoglobulin or alemtuzumab. *Am J Gastroenterol* 2006, **101** : 1617-1624

WU Z, BENSINGER SJ, ZHANG J, CHEN C, YUAN X, et coll. Homeostatic proliferation is a barrier to transplantation tolerance. *Nat Med* 2004, **10** : 87-92

XU H, ZHANG X, MANNON RB, KIRK AD. Platelet-derived or soluble CD154 induces vascularized allograft rejection independent of cell-bound CD154. *J Clin Invest* 2006, **116** : 769-774

YAMADA A, SALAMA AD, SHO M, NAJAFIAN N, ITO T, et coll. CD70 signaling is critical for CD28-independent CD8+ T cell-mediated alloimmune responses in vivo. *J Immunol* 2005, **174** : 1357-1364

YU G, XU X, VU MD, KILPATRICK ED, LI XC. NK cells promote transplant tolerance by killing donor antigen-presenting cells. *J Exp Med* 2006, **203** : 1851-1858

YU M, WANG H, DING A, GOLENBOCK DT, LATZ E, et coll. HMGB1 signals through toll-like receptor (TLR) 4 and TLR2. *Shock* 2006, **26** : 174-179

ZHAI Y, MENG L, GAO F, BUSUTTIL RW, KUPIEC-WEGLINSKI JW. Allograft rejection by primed/memory CD8+ T cells is CD154 blockade resistant: therapeutic implications for sensitized transplant recipients. *J Immunol* 2002, **169** : 4667-4673

ZHAI Y, SHEN XD, O'CONNELL R, GAO F, LASSMAN C, et coll. Cutting edge: TLR4 activation mediates liver ischemia/reperfusion inflammatory response via IFN regulatory factor 3-dependent MyD88-independent pathway. *J Immunol* 2004, **173** : 7115-7119

ZHAI Y, SHEN XD, HANCOCK WW, GAO F, QIAO B, et coll. CXCR3+CD4+ T cells mediate innate immune function in the pathophysiology of liver ischemia/reperfusion injury. *J Immunol* 2006, **176** : 6313-6322

ZHANG Q, LIANG LW, GJERTSON DW, LASSMAN C, WILKINSON AH, et coll. Development of posttransplant antidonor HLA antibodies is associated with acute humoral rejection and early graft dysfunction. *Transplantation* 2005, **79** : 591-598

ZOU Y, STASTNY P, SUSAL C, DOHLER B, OPELZ G. Antibodies against MICA antigens and kidney-transplant rejection. *N Engl J Med* 2007, **357** : 1293-1300